

Der PLT-F – schnell, einfach und zuverlässig für die Messung von Thrombozyten und vergleichbar mit der FCM-Methode

Carmen Barthuber¹, Derik Hermsen¹

¹ Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, Universitätsklinikum Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf, Deutschland

Einführung

Ein exakter Thrombozytenwert ist essenziell, insbesondere wenn der Thrombozytenwert im kritisch niedrigen Bereich liegt und über die Gabe eines Thrombozytenkonzentrats entscheidet. Im Allgemeinen werden Thrombozyten in der Routine mit der Impedanztechnologie (PLT-I) sicher bestimmt.

In Proben, die Fragmentozyten oder Riesenthrombozyten enthalten, kann die Impedanztechnologie (PLT-I) Erythrozyten und Thrombozyten jedoch nicht immer sicher trennen, da sich die Volumina beider Zellklassen überlappen können. In diesen Fällen bedürfen die mit der Impedanztechnologie ermittelten Thrombozytenwerte einer Überprüfung mit alternativen Methoden.

Die Analysesysteme der XN-Serie ermöglichen neben der Impedanztechnologie (PLT-I) eine fluoreszenzoptische Zählung der Thrombozyten (PLT-F). Für diese Bestimmung werden die Thrombozyten mit einem speziellen Fluoreszenzfarbstoff markiert. Das Zählvolumen im PLT-F ist fünffach höher als in der PLT-I-Messung, so dass auch thrombozytopenische Proben mit einer hohen Genauigkeit gezählt werden können. Bei Vorliegen von Riesenthrombozyten oder Fragmentozyten liefert die PLT-F-Messung ein korrektes Ergebnis, vergleichbar mit der vom ICSH empfohlenen Referenzmethode – der durchflusszytometrischen Thrombozytenmessung mittels monoklonaler Antikörper CD61/CD41 (PLT-FCM).

PLT-F ist eine optionale Anwendung auf Sysmex XN-Systemen. Sie kann manuell angewählt oder automatisch als Reflexmessung eingesetzt werden, wenn bestimmte Interferenzen im PLT-I-Histogramm auftreten oder wenn der Thrombozytenwert unter einem kundenspezifischen Grenzwert liegt.

Wenn die Abweichung der Impedanztechnologie (PLT-I) gegenüber der fluoreszenzoptischen Methode (PLT-F) zu groß ist, verwenden einige Labore klassische Methoden zur Plausibilitätskontrolle, u. a. die Abschätzung der Thrombozytenzahl nach Fonio oder die Thrombozyten-Kammerzählung (Neubauer-Kammer).

Studienziel

Ziel unserer Studie ist es zu zeigen, dass die fluoreszenzoptische Messung von Thrombozyten (PLT-F) ein zuverlässiges Ergebnis liefert und eine zusätzliche Abschätzung der Thrombozytenzahl nach Fonio zur Plausibilitätskontrolle entfallen kann.

Eine vollständige Automatisierung der Thrombozytenzählung würde den Workflow enorm verbessern und gleichzeitig erhebliche diagnostische Vorteile bieten, da die Verabreichung eines Thrombozytenkonzentrats in vielen Fällen von genauen Ergebnissen abhängt, die mit den manuellen Methoden nicht bereitgestellt werden können.

Proben

In 63 Proben mit einer hohen Diskrepanz zwischen PLT-I und PLT-F oder einem abnormalen PLT-I-Histogramm wurde eine durchflusszytometrische Messung (CD61/CD41) am BD FACSCanto™ II durchgeführt. Die meisten Proben lagen im thrombozytopenischen Bereich (PLT < 150 T/ μ l). Für 52 Proben erfolgte zusätzlich eine Abschätzung der Thrombozytenzahl nach Fonio.

Ergebnisse

Der Methodenvergleich zwischen der durchflusszytometrischen Thrombozytenmessung am BD FACSCanto™ II und der PLT-F-Messung am XN ergab eine sehr hohe Korrelation von $r = 0,99$ und zeigte eine sehr gute Übereinstimmung der Messergebnisse (Abb. 1a). Der Methodenvergleich mit der Fonio-Methode zeigte nur eine Korrelation von $r = 0,84$ und somit eine deutlich geringere Übereinstimmung (Abb. 1b).

Abb. 1a

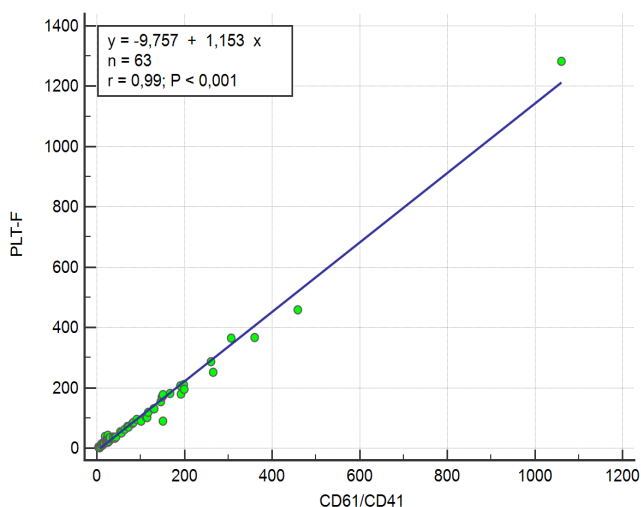


Abb. 1b

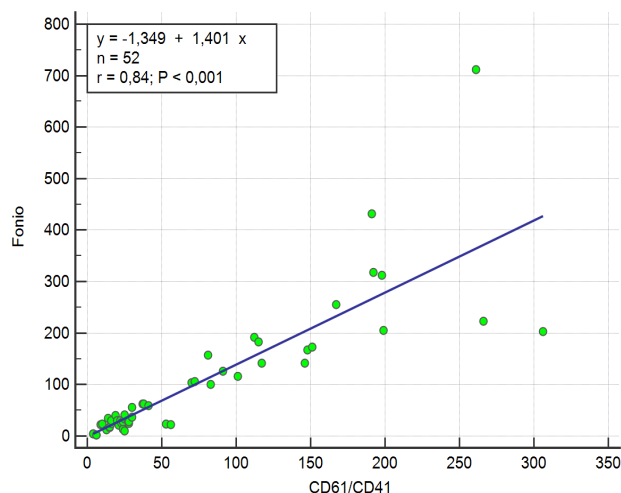


Abbildung 1: Abb. 1a (links) Methodenvergleich Durchflusszytometrie versus PLT-F ($n = 63$) mit einer Korrelation von $r = 0,99$; Abb. 1b (rechts) Methodenvergleich Durchflusszytometrie versus Fonio ($n = 52$) mit einer Korrelation von $r = 0,84$. Die Regressionsanalyse erfolgte nach der Methode von Passing und Bablok.

Auch bei schwerer Thrombozytopenie zeigte sich eine hervorragende Korrelation ($r=0,92$) zwischen der durchflusszytometrischen Messung und der PLT-F-Messung am XN. (Abb. 2a). Die Korrelation zwischen Durchflusszytometrie und Fonio-Methode fiel deutlich geringer aus ($r = 0,77$) (Abb. 2b).

Abb. 2a

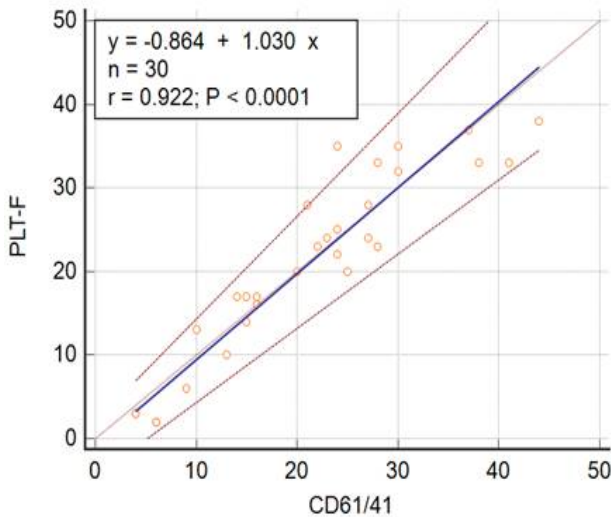


Abb. 2b

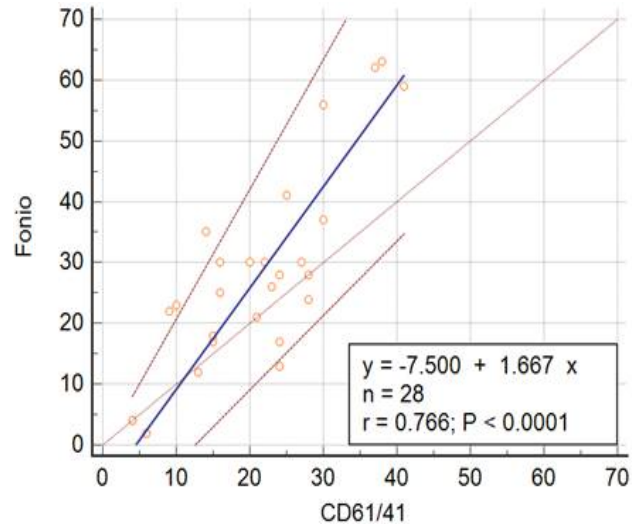


Abbildung 2: Methodenvergleich bei schwerer Thrombozytopenie: Abb. 2a (links) Methodenvergleich FCM versus XN PLT-F (n=30); Abb. 2b (rechts) Methodenvergleich FCM versus Fonio (n=28)

Fallbeispiel

Bei einem Patienten ergab die Thrombozytenmessung im Impedanz-Kanal (Abb. 3a) ein auffallend niedriges Thrombozytenergebnis: $PLT-I = 10 \times 10^3/\mu L$. Im RBC-Bereich des Histogramms waren Auffälligkeiten in Form von Riesenthrombozyten erkennbar (siehe Pfeil). Aufgrund dessen erfolgte die automatisierte Messung im PLT-F-Kanal. Diese fluoreszenzoptische Messung ermöglicht eine klare Unterscheidung zwischen Riesenthrombozyten und Erythrozyten und die PLT-F-Messung (Abb. 3b) konnte somit ein deutlich höheres Thrombozytenergebnis zeigen: $PLT-F = 23 \times 10^3/\mu L$. Der automatisch berichtete PLT-F-Wert korrelierte sehr gut mit dem FCM-Ergebnis (Abb. 3c): $PLT-FCM = 22 \times 10^3/\mu L$. Das XN-Analysesystem ermittelt zusätzlich die unreife Thrombozytenfraktion (IPF%) als Marker der Thrombozytenproduktion im Knochenmark.

Abb. 3a

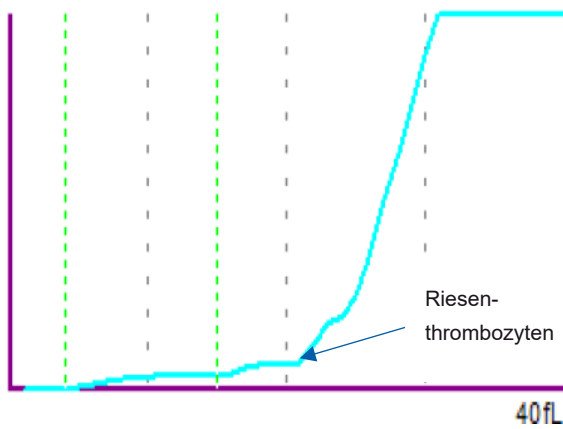


Abb. 4b

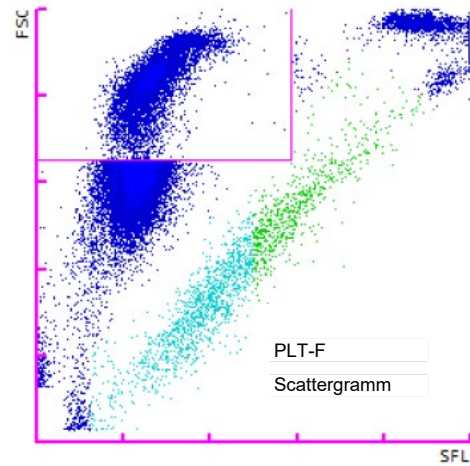


Abbildung 3: Abb. 3a (links) PLT-I = $10 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Impedanzmessung); Riesenthrombozyten (Pfeil) befinden sich im RBC-Bereich des Histogramms; Abb. 3b (rechts) Das PLT-F-Scattergramm zeigt eine deutlich abgegrenzte PLT-Population und ermöglicht die Messung aller Thrombozyten mit sehr hoher Genauigkeit anhand der Fluoreszenztechnologie. Der PLT-F-Wert wurde mit $23 \times 10^3/\mu\text{L}$ ausgegeben.

Abb. 4a

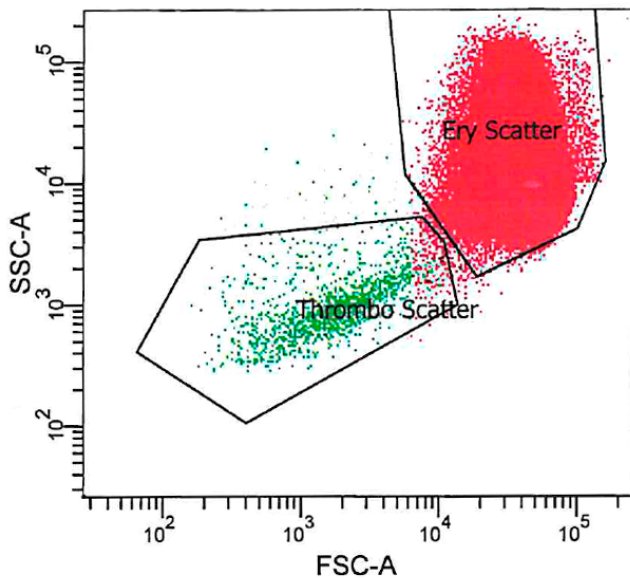


Abb. 4b

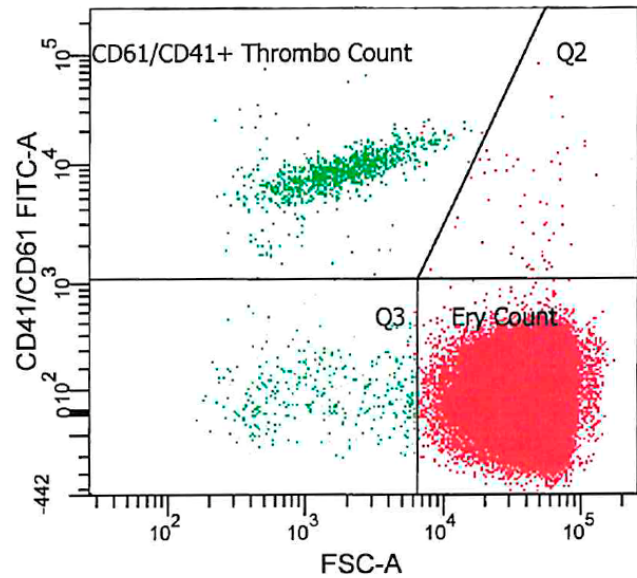


Abbildung 4: Patientenbefund am BD FACSCanto™ II (Abb.4a: FSC/SSC-Plot, Abb. 4b: Plot - Immunologische Färbung) mit einem sehr niedrigen PLT-Wert (Entscheidungsbereich für PLT-Konzentrat), Die durchflusszytometrische Messung (Referenzmethode) bestätigte das ausgegebene PLT-Ergebnis: PLT-FCM = $22 \times 10^3/\mu\text{L}$

Schlussfolgerung

Der Thrombozytenwert aus dem PLT-F-Kanal war mit der Referenzmethode (durchflusszytometrische Messung CD61/64) sehr gut vergleichbar. Die Abschätzung der Thrombozytenzahl nach Fonio hatte eine schlechte Korrelation mit der Referenzmethode, denn sie wird zusätzlich durch subjektive Faktoren beeinflusst. Daher wird die PLT-F-Methode routinemäßig in unserem Labor als Bestätigungstest bei unplausiblen PLT-I-Messungen eingesetzt.

Wir bedanken uns bei Frau Dr. med. C. Barthuber (Zentrallabor, Universitätsklinikum Düsseldorf) für die freundliche Zurverfügungstellung der Informationen und Daten.

Kontakt

- **Sysmex Deutschland GmbH** · Bornbarch 1, 22848 Norderstedt · Telefon +49 40 534102-0 · Fax +49 40 5232302 · xtra@sysmex.de · www.sysmex.de/xtra
- **Sysmex Suisse AG** · Tödistrasse 50, 8810 Horgen · Telefon +41 44 718 38 38 · xtra@sysmex.ch · www.sysmex.ch/xtra
- **Sysmex Austria GmbH** · Lienfeldergasse 31-33, 1160 Wien · Telefon + 43 1 486 16 31 · Fax + 43 1 486 16 31 25 · xtra@sysmex.at · www.sysmex.at/xtra